This Page Is Inserted by IFW Operations and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents will not correct images, please do not report the images to the Image Problems Mailbox.

. 8637147 STIC-IL

From: Sent: To: Subject:

Holleran, Anne Wednesday, October 30, 2002 3:48 PM STIC-ILL refs. for 09/835,759

Please send copies of the following papers:

1.	Keith,	Cancer Immunology, Immunotherapy (2002) 51(10): 521-531		
2.	Mian	Immunology and Medicine Series (2001) 30(Cancer mmunolgy), 1-26		
3.	Timmerman	J. Immunology (2000) 164(9): 4797-4803		
4.	Santin	J. Virology (2000) 74(10): 4729-4737 J. Virology (2000) 74(10): 4729-4737 J. Virology (2000) 74(10): 4729-4737 J. Virology (2000) 74(10): 4729-4737		
5.	Tanigawa	J. Immunotherapy (2000) 23(5): 528-535	NOV 0 1 RECD	
6.	Flieger	Hybridoma (1999) 18(1): 63-68		
7.	Sandmaier	J. Immunotherapy (1999) 22(1): 54-66	PAT. & T.M. OFFICE	
8.	Reinartz	Hybridoma (1999) 18(1): 41-45	A series were annual to the series with the series of	
9.	Lofthouse	661050 GTG0 16		
10.	Haagen	Leukemia and Lymphoma (1995) 19(5-6): 381-393		
(11.	Reddish	Onkologie (1995) 18(suppl 1): 33-35	0378-5842	
12.	Apostolopoulos Cancer Res. (1994) 54(19): 5186-5193			

Anne Holleran AU: 1642 Tel: 308-8892 RM: 8e03

mailbox: 8e12



Edmonton, Canada

Active Specific Immunotherapy of Adenocarcinomas with Synthetic Tumor-Associated Antigens Conjugated to Keyhole Limpet Hemocyanin

Key Words

Keyhole limpet hemocyanin DTH response, hapten-specific TH1 immune response TH2 immune response T-cell proliferative activity KLH conjugates

Summary

We have been conducting phase II clinical trials for the treatment of various adenocarcinomas with synthetic carbohydrate epitope vaccines that utilized Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) as a carrier protein. To date, over 180 patients have been enrolled into these immunotherapy studies with the sialyl-Tn antigen conjugated to KLH. Objective tumor responses have been observed in these trials in both breast and ovarian cancer patients. The phase II studies have been designed to answer key questions towards optimizing the immunotherapeutic effects. The first question was to determine the optimal route (oral vs. intravenous) of low-dose cyclophosphamide that is used to overcome a state of tumor-induced immunosuppression. The antibody titer data from this study show a statistically significant increase in anti-STn IgG antibodies in the IV group. The second key question has been the optimal dose of antigen to use for the generation of a therapeutically beneficial immune response. This is in light of recent observations that low doses of antigens may favor a TH1 (cellular) immune response as opposed to a TH2 (antibody-based) immune response. We have shown that low doses (1 µg) of Theratope® STn-KLH vaccine but not high doses (25 µg) will induce a hapten-specific DTH response in CAF1 mice. In addition, a low dose of vaccine will cause greater T-cell proliferative activity in a popliteal lymph node cell population after footpad challenge. The supernatants of these antigen-stimulated cultures do indeed contain gamma-interferon in a relative absence of IL-10, thus confirming the TH1 nature of this response. We have investigated this low-dose T-cell response with other KLH conjugates and with KLH itself and this observation is consistent. Thus KLH conjugates, although frequently employed for optimizing an antibody response to T-cell-independent antigens, are capable of inducing TH1 immune responses, and do so optimally at lower doses. These effects are optimally seen with certain adjuvant formulations (DETOX ™-B, RIBI Immunochem).

As a part of the immunologic monitoring of our ASI patients, we have performed in vitro antigen stimulations for hapten-specific blastogenesis and cytokine profiles. The data suggest that a TH1 immune response as measured by gamma-interferon production (without IL-10 production) is associated with disease stability and/or partial responses. These are the immunologic parameters by which the current dose range studies are being evaluated for the selection of an optimal therapeutic dose of Theratope® STn-KLH.

Antipen (Ag) Physiological response to the KLH construct chemical functional identity				
- peptides - proteins - glycopeptides - glycoproteins	tumor-specific antigenscytokinesvaccines	- antitumor response - suppression of cytokine synthesis - vaccination - antiallergic effect - production of monoclonal antibodies		
- carbohydrates (mono-, oligo-, polysaccharides)	– vaccines – allergens	- vaccination - antiallergic effect		
- chemical compounds	- allergens - hormones	antiallergic effect antihormone effect		

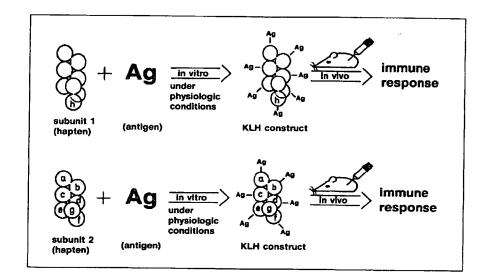


Fig. 1. KLH-antigen reaction.

Schlüsselwörter

Keyhole Limpet Hämocyanin DTH-Antwort, Hapten-spezifische TH1-Immunantwort TH2-Immunantwort T-Zell-Immunantwort KLH-Konjugate

Zusammenfassung

Wir führen klinische Phase-II-Studien zur Behandlung verschiedener Adenokarzinome mit synthetischen Kohlenhydrat-Epitop-Vakzinen durch, die Keyhole Limpet Hämocyanin (KLH) als Trägerprotein verwendeten. Bis heute sind mehr als 180 Patienten in diese Studien zur Immuntherapie mit dem an KLH gekoppelten Sialyl-Tn-Antigen aufgenommen worden. In diesen Studien wurde sowohl beim Mamma- als auch beim Ovarialkarzinom eine objektive Tumor-Response beobachtet. Diese Phase-II-Studien sollen Schlüsselfragen für die Optimierung immuntherapeutischer Effekte beantworten. Die erste Frage war die nach dem optimalen Verabreichungsweg (oral oder intravenös) von niedrigdosiertem Cyclophosphamid, das zur Überwindung einer Tumor-induzierten Immunsuppression eingesetzt wird. Die Antikörpertiter-Daten aus dieser Studie zeigen einen statistisch signifikanten Anstieg der Anti-STn-lgG-Antikörper in der i. v.-Gruppe. Die zweite Frage war die nach der optimalen Antigendosis zur Erzeugung einer therapeutisch vorteilhaften Immunantwort. Dies stützt sich auf neueste Erkenntnisse, daß niedrige Antigendosen wohl eine TH1-Immunantwort (zellulär) statt einer TH2-Immunantwort (auf Antikörpern basierend) begünstigen. Wir konnten zeigen, daß niedrige Dosen (1 µg) der

Theratope®-STn-KLH-Vakzine – jedoch nicht hohe Dosen (25 μg) – eine Haptenspezifische DTH-Antwort in CAF1-Mäusen auslösen. Außerdem verursacht eine niedrige Vakzindosis nach einer Reizung des Fußballens eine höhere Proliferationsaktivität der T-Zellen in einer Zellpopulation des poplitealen Lymphknotens. Die Überstände dieser Antigen-stimulierten Kulturen enthalten in der Tat Interferon-γ bei relativer Abwesenheit von IL-10, was bestätigt, daß es sich um eine TH1-Immunantwort handelt. Wir untersuchten die T-Zell-Immunantwort nach Anwendung von anderen niedrigdosierten KLH-Konjugaten sowie von KLH selbst und fanden diese Beobachtung bestätigt. Obwohl KLH-Konjugate häufig dazu verwendet werden, eine Antikörper-Response auf T-Zell-unabhängige Antigene zu optimieren, können sie also TH1-Immunantworten induzieren, wobei eine optimale Antwort durch niedrige Dosen erzielt wird. Diese Effekte können mit bestimmten Adjuvanzien (DE-TOX™-B, RIBI Immunochem) optimal hervorgerufen werden.

Als Teil des Immunmonitorings unserer ASI-Patienten führten wir in vitro Antigen-Stimulierungen für die Hapten-spezifische Blastogenese und Zytokinprofile durch. Die Ergebnisse deuten an, daß eine TH1-Immunantwort – gemessen durch die Interferon-γ-Produktion (ohne IL-10-Produktion) – mit der Stabilität der Krankheit und/oder mit einer Teil-Response zusammenhängt. Dies sind die Immunparameter, mit denen die derzeit laufenden Dosisfindungsstudien zur Bestimmung einer optimalen therapeutischen Dosis von Theratope®-STn-KLH ausgewertet werden.